

# たまねぎの抗酸化活性に関する研究

## Study on the antioxidative activity in onion

岩 渕 絵里子

Eriko IWABUCHI

荒 川 義 人

Yoshihito ARAKAWA

We are currently dealing with challenges, such as change in diet, superfluous stress, and environmental destruction. As a result, high level of active oxygen and freeradicals are generated. In order to identify lifestyle choices to eliminate these substance, antioxidative substances are required and it may be necessary to take in polyphenol and vitamins with antioxidative activity. The onion contains numerous antioxidative substances, such as quercetin and other polyphenol, and is thus attracting attention.

This report describes the antioxidative activity of the onion based on several experiment.

- (1) It became clear that the antioxidative activity of the onion changes greatly with cultivars.
- (2) Although the contribution of polyphenol, such as quercetin was considered to be large, the antioxidative activity of an onion requires many kinds of other compounds.

Key words: Antioxidative activity : 抗酸化活性

Active oxgen : 活性酸素

Freeradical : フリーラジカル

Quercetin : ケルセチン

Anthocyanin : アントシアニン

## 1. はじめに

私たちは、呼吸により酸素を体内に取り込むことによって、栄養素をエネルギーに変換し、生命を維持している。近年、この吸気酸素中に、あるいは通常の酸素が生体内で変化し、生活習慣病や老化などへの関与が明らかにされている「活性酸素・フリーラジカル」(以下「活性酸素」と略)が生成していることが判明した。「活性酸素」は、生体の恒常性を保つために必要不可欠でもある。しかし、現代社会では、食生活の変化や過剰のストレス、そして大気汚染をはじめとする環境悪化などが、我々の生体に備わっている「活性酸素」消去システムに影響を及ぼし、消去能力を超える量が体内に存在するようになった。そのため、食品中の抗酸化活性を有する物質を積極的に利用し、「活性酸素」を消去することが重要と考えられている。

「活性酸素」を消去する食品中の抗酸化物質として、ポリフェノール類や抗酸化活性ビタミンがある。ポリフェノール類にはカテキン、フラボノイド、アントシアニン等<sup>1)</sup>があり、主に植物の果実や葉などに含まれている。抗酸化活性ビタミンとしては、同じく植物性食品に豊富なビタミンC、Eが古くから知られている。

本実験では、とくに貯蔵性に富み、多量に摂食できるたまねぎを試料として、ロダン鉄法により抗酸化活性を測定し、高速液体クロマトグラフィー(以下 HPLC と略)によるケルセチンの定量と Folin-Denis 法<sup>2)</sup>による総ポリフェノールの定量を行い、たまねぎの種類による抗酸化活性とケルセチン、ポリフェノールの量的関係を比較、検討したので報告する。

## 2. 実験

### (1) 試料

今回の実験には、一般に市販されているたまね

ぎ3種(写真1)を選択して供した。各試料の品種(特徴)、産地、そして実験に用いた部位等の概要を表1に示した。

### (2) 試薬

#### 1) ロダン鉄法

エタノール(Ethanol)、ツィーン80(Polyoxyethylene sorbitan monooleate)、リノール酸(Linoleic acid)、塩化第1鉄(Iron(II) chloride tetrahydrate)、チオシアン酸アンモニウム(Ammonium thiocyanate)、リン酸水素二ナトリウム(Disodium hydrogenphosphate 12-water)、リン酸二水素ナトリウム(Sodium dihydrogenphosphate dihydrate)、塩酸(Hydrochloric acid)を用いた。

#### 2) ケルセチンの定量

メタノール(Methanol)、酢酸(Acetic Acid)、アセトニトリル(Acetonitrile)を用いた。

#### 3) 総ポリフェノール量の定量

ジメチルスルホキシド(DMSO)、フェノール試薬(Folin-Ciocalteu)、炭酸ナトリウム(Sodium carbonate)、(+)-カテキン((+)-Catechin)を用いた。

### (3) ロダン鉄法による抗酸化活性の測定

#### 1) 試料溶液の調製

各試料を約1g精秤し、99.5%エタノール(99ml)で抽出、定容して0.1%試料溶液とした。各0.1%試料エタノール溶液2mlを共栓付小試験管にとり、これに2.5%リノール酸エタノール溶液2ml、0.05Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)

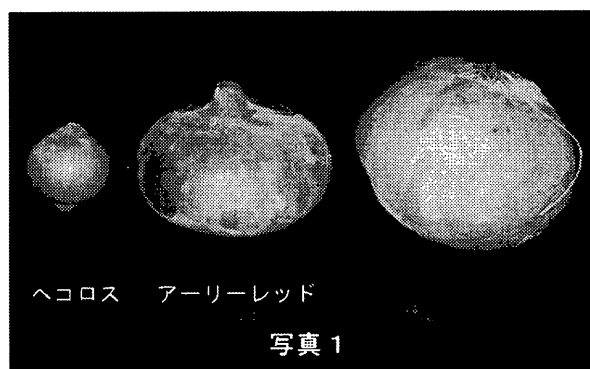


表1 実験試料

試料	品種・特徴	産地	切り方(皮・部位)
たまねぎ(1)	不明	栃木産	皮をむき、たてに4等分し、全体から採取
たまねぎ(2)	アーリーレッド(赤)	神奈川産	皮をむき、たてに4等分し、全体から採取
たまねぎ(3)	ペコロス(小)	不明	皮をむき、たてに4等分し、全体から採取

4 ml、蒸留水 2 ml、ツィーン80を 2 滴加え、ミキサーを用いてよく攪拌した。最終的な試料濃度は 0.02%とし、これを 50℃の恒温器中に静置した。また、試料を含まない 99.5%エタノールを加えたものを対照 (Control) とし、比較物質としては天然抗酸化剤である  $\alpha$ -トコフェロール (以下  $\alpha$ -Toc と略) とケルセチンを用いた。

## 2) 抗酸化活性の測定

経時的に各調製試料溶液から 0.1ml を試験管に採取し、75%エタノール溶液 9.7ml、30%チオシアン酸アンモニウム溶液 0.1ml を加え、ミキサーを用いてよく攪拌した。これに塩化第 1 鉄を 3.5 %塩酸で溶解した 0.02M 塩化第 1 鉄塩酸溶液 0.1ml を加え再び攪拌し、正確に 3 分後に 500nm の吸光度を分光光度計によって測定した。この操作を 24 時間ごとに 144 時間後まで行った。同様の操作を Control、 $\alpha$ -Toc、ケルセチンについても行った。各試料について 2 反復測定して得られた値の平均値を結果とした。

## (4) ケルセチンの定量方法

### 1) 試料溶液の調製

各試料を約 10 g 精秤し、メタノールで抽出し、80℃で 1 時間還流後、50ml に定容し、試料溶液とした。

### 2) ケルセチンの定量

各試料調製溶液を 0.45  $\mu$ m フィルターで濾過後、表 2 の測定条件で HPLC に供して測定した。

## (5) 総ポリフェノール量の定量方法

### 1) 試料溶液の調製

各試料を約 5 g 精秤し、ジメチルスルホキシドで 15 分間室温抽出後、50ml に定容、濾過して試料溶液とした。

### 2) 総ポリフェノール量の定量

各試料調製溶液 50  $\mu$ l に蒸留水 4ml、5 倍希釈

したフェノール試薬 1ml、10%炭酸ナトリウム溶液 1 ml を加えミキサーでよく攪拌し、暗所で 1 時間反応後、760nm の吸光度を分光光度計によって測定した。予め作成した (+) -カテキンを用いた検量線から総ポリフェノール量を求めた。各試料について 2 反復測定して得られた値の平均値を結果とした。

## 3. 結果と考察

図 1 のたまねぎの抗酸化活性では、たまねぎ (3) の小型のペコロスが最も強い活性を示し、96 時間後以降においても強い活性が維持され、144 時間後では比較物質の  $\alpha$ -Toc より活性が強かった。一方、たまねぎ (1)、(2) は、96 時間までは強い活性を示し、それ以降は活性が弱まる傾向がみられた。たまねぎの抗酸化活性は種類によって異なり、今回の試料では、とくにペコロスに強い活性が認められた。ペコロスには抗酸化物質が多く存在することが推察される。しかし、

図 2 のたまねぎの乾物 100 g あたりのケルセチン含量を比較すると、たまねぎ (1) では予想通り少ない結果となったが、たまねぎ (3) に比べたまねぎ (2) の方がケルセチン含量は多かった。さらに、総ポリフェノール含量を比較すると、やはりたまねぎ (1) では少ないものの、たまねぎ (3) よりたまねぎ (2) の方が総ポリフェノール量が多く含まれていた。たまねぎ (2) には、ポリフェノールの一種である赤紫色のアントシアニン色素が多く含まれている。このことから、たまねぎの抗酸化活性にはケルセチンなどのポリフェノールが大きく関与するが、それ以外の物質の関与もあり、それがペコロスの最も強い活性に関わっているものと推察された。

表 2 HPLC の測定条件

カラム	Inertial ODS-3(4.6×250mm)
移動相	2.5%酢酸：メタノール：アセトニトリル=50：30：20(v/v)
検出器	紫外線 (350nm)
温度	20℃
流速	1.0(ml/min)

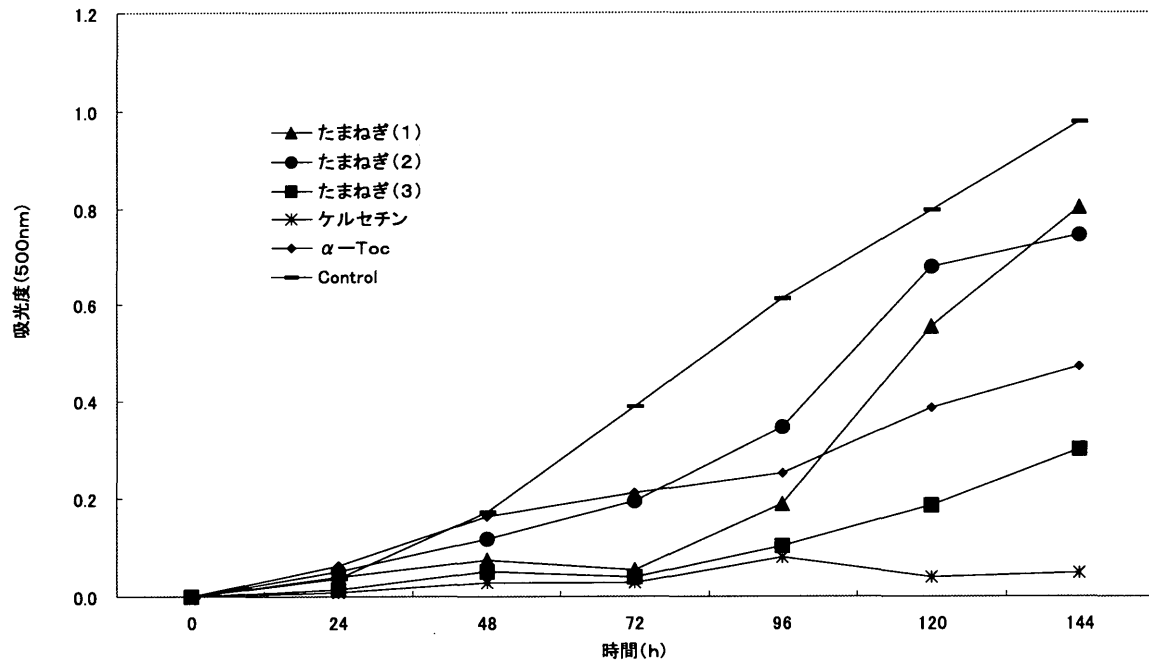


図1 抗酸化活性の経時変化

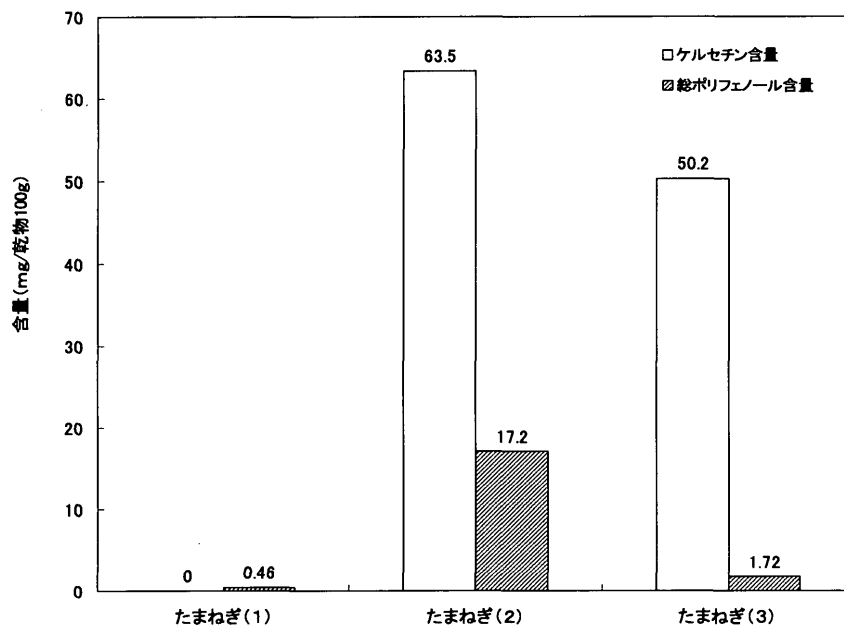


図2 ケルセチン、総ポリフェノール含量

#### 4. おわりに

本実験から、たまねぎの抗酸化活性には、ケルセチンのほかにアントシアニンなどのポリフェノール類の影響が大きく、また、ポリフェノール以外の物質が関与していることが示唆された。

ケルセチンは、フラボノイド化合物の一種で、一般には液胞内に存在し、その濃度は種、状態などによって大きく異なり、また、紫外線に対する

フィルター作用<sup>3)</sup>などから外側の皮部分に多いといわれている。赤色系のアーリーレッドの抗酸化活性には、ケルセチン、アントシアニン両物質が関与し、とくにアントシアニンの影響が強いと考えられる。しかし、アントシアニンの抗酸化活性の持続性に関しては、96時間後の抗酸化活性が低下したことから、ケルセチンと比較すると弱いのではないかと推察された。一方、小型のペコロスの抗酸化活性には、持続性が認められ、ポリフェノール類以外の成分として、含硫化合物<sup>3)</sup>の関

与も示唆された。含硫化合物には、揮発性のものがあり、ペコロスは小型であることから全体を丸ごと実験に供している。このことが強い抗酸化活性を示した一因とも考えられる。

たまねぎ(1)は、ケルセチン、アントシアニンなどのポリフェノール類の含量がほかの品種のたまねぎに比べ少ないにもかかわらず、96時間後までは同様の抗酸化活性を示した。今回の実験では、強い抗酸化活性をもつケルセチンの定量に焦点を絞ったが、実際のたまねぎ中のケルセチンは配糖体としても多く存在している<sup>4)</sup>ため、今後はこれら配糖体の定量を行うこと、さらに含硫化合物の定量も行うことで、これらの物質と抗酸化活性との関連を明らかにすることが重要と考えられる。

#### 謝辞

今回の実験を進めるにあたって、試料調製等でご協力いただいた本学の砂田和香さんに謝意を表します。

#### 引用文献

- 1) 森山洋憲：アントシアニン色素のスーパーオキシドアニオン消去能の測定、日本食品科学工学会誌、50(11)、499、(2003)
- 2) 鈴木誠：Folin-Denisによる総ポリフェノール量測定のための抽出溶媒の検討、日本食品科学工学会誌、49(7)、507、(2002)
- 3) 加藤保子：栄養・健康科学シリーズ食品学各論改訂第3版、63、南江堂、(2002)
- 4) 中野稔：活性酸素、342-347、共立出版株式会社、(1996)

#### 参考文献

- 1) Tameichi Ochiai : Highly Sensitive Spectroscopic Method for Measuring Antioxidant Activity using Galvinoxyl Radical, Japanese Journal of Food Chemistry (JJFC), 10(1)、13、(2003)
- 2) 松坂裕子：アボカド種子中の抗酸化成分、日本食品科学工学会誌、50(11)、550、(2003)
- 3) 吉川敏一：活性酸素・フリーラジカルのすべて、丸善株式会社、(2003)

- 4) 二木鋭雄：生活習慣病の予防に抗酸化ビタミンをどのように利用したらよいか、ビタミン、76(1)、20、(2002)
- 5) 大澤俊彦：ポリフェノールの発見と存在意義、ビタミン、76(9)、413、(2002)
- 6) 酒井重男：健康に役立つポリフェノール成分、食の科学、294、30、(2002)
- 7) 和田昭允：食品の抗酸化機能、26-33、学会センター関西、(2002)
- 8) 阿部皓一：ビタミンEは酸化ストレス亢進下で心疾患を予防する、ビタミン、75(5・6)、296、(2001)
- 9) 村田晃：新ビタミンCと健康、189、共立出版、(2001)
- 10) 藤本大三郎：図解雑学老化のしくみと寿命、ナツメ社、(2001)
- 11) 科学技術庁資源調査会編：五訂日本食品標準成分表、大蔵省印刷局、(2000)
- 12) 梶本五郎：抗酸化剤の理論と実際、1-119、三秀書房、(1984)